

Archiafava & Celli

Atti dei Lincei (6)
Cl. Sci. fis.

Memorie

3a serie

Vol. 18

pp. 381-401

[1883]



6.

Sulle alterazioni dei globuli rossi
nella infezione da malaria e sulla genesi della melanemia.

Memoria del prof. E. MARCHIAFAVA e del dott. A. CELLI

approvata per la stampa negli Atti dell'Accademia
nella seduta del 2 dicembre 1883.

(Con due tavole)



Fra tutte le alterazioni, che nell'umano organismo determina la infezione da malaria, la più caratteristica è quella che occorre nel sangue e che si chiama *melanemia* (¹). Questa discrasia consiste nella presenza nel sangue di pigmento giallo brunastro o nero, raramente libero, generalmente raccolto entro gli elementi cellulari bianchi. È facile verificare la esistenza del pigmento nel sangue, esaminandone uno strato sottilissimo; e nei soggetti morti di febbri perniciose si trova spesso grande copia di pigmento, libero o incluso entro elementi cellulari, nei vasi sanguigni della milza, del midollo osseo, del fegato, del cervello, dei reni, dei polmoni ecc. Quando la melanemia è cessata, rimane la *melanosi* della milza, del midollo osseo, del fegato, cioè la deposizione di granuli e di zolle pigmentarie attorno ai vasi sanguigni e nel tessuto connettivo perilobulare del fegato, verosimilmente entro e attorno i vasi linfatici. La melanosi attesta della melanemia progressa.

La origine di questo pigmento fu da quasi tutti gli autori derivata dalla sostanza colorante dei globuli rossi, ma non vi è accordo nè sul luogo della formazione del pigmento, nè sul modo come veramente accade. Tale discordia risulterà chiaramente dal seguente riassunto storico della melanemia.

Le antiche scuole mediche (²) ammettevano che talora nella milza e nel sangue della vena porta si prodcessero materie nere capaci di divenire sorgente di malattie. La bile nera formava per essi un elemento essenziale della teoria umoristica, e Galeno la faceva accumulare nella milza, e cagionare l'ingorgo dei vasi sanguigni, l'ostruzione degli intestini, e i gravi disturbi nervosi. Lasciando però da parte le vedute degli antichi sull'atrabile ed i suoi effetti sull'organismo, fin dal secolo passato si cominciò a notare che alcuni organi si mostravano di colore nero, o nerastro, nelle febbri gravi da malaria. Così ad esempio Lancisi (³) parlando delle alterazioni trovate nei morti di febbri palustri dice: *Primum in iis qui ob tertianas perniciosas occiderunt, ingens malorum sedes sub aspectum venit in abdomine, ubi*

(¹) La melanemia, per quanto sappiamo finora, occorre solamente nella infezione da malaria, ed ha caratteri così propri che non si capisce come sia stata confusa da alcuni autori con altri processi patologici, p. e. colle diatesi emorragiche, colla cianosi congenita ed acquisita, col morbo di Addison ecc.

(²) Frerichs, *Clinica delle malattie del fegato*. Traduzione italiana. Napoli, 1867.

(³) *De noxiis paludum effluviis eorumque remediis*. Romae, 1727.

omnia livida, et potissimum hepar subfusci, ac bilis cystica atri coloris passim occurrerunt.

Mekel però fu il primo che osservò il pigmento nel sangue di un pazzo, e lo ritenne originato da una penetrazione di particelle colorate dalla milza nel sangue.

Virchow (1) scoprì quindi numerose cellule pigmentarie nel sangue e nella milza di un uomo morto idropico, in seguito a persistenti accessi di febbre intermittente, e suppose che il pigmento avesse la sua origine dalla milza, ed insistè nell'affermare la melanemia come una discrasia procedente dall'alterazione di un organo.

Tigri vide la melanosì della milza e designò tale alterazione col nome di *milza nera*.

Frerichs (2) descrisse accuratamente la melanemia e i suoi effetti sull'organismo. Egli osservò nel sangue granuli e molecole nere, elementi cellulari pigmentati ora simili ai leucociti, ora fusiformi, ora cilindrici. Oltre questi elementi pigmentari Frerichs ritrovò accumuli di granuli neri tenuti insieme da una sostanza pallida, o aventi un involucro di sostanza jalina ora sottile, ora più largo, ma sempre a contorni indeterminati, e masse pigmentarie talora di forma cilindrica, con faccie parallele, circondate da una zona più o meno larga di sostanza traslucida, visibile talora soltanto da un lato. Quanto al luogo di formazione del pigmento, Frerichs ritenne che esso era la milza, donde il pigmento passava nel circolo generale. A ciò provare portò i seguenti argomenti: a) nella milza normale si trova pigmento; b) nella melanemia la milza si trova sempre più carica di pigmento; c) nel circolo generale si trovano epitelii pigmentati della milza. Frerichs credè però che talora il fegato potesse partecipare alla genesi del pigmento. Quanto poi al modo come si forma il pigmento Frerichs pensò che ciò accadesse perchè nelle iperemie malariche della milza il sangue dai capillari si versa in un sistema di vaste lacune, dove hanno luogo facili ristagni, donde la formazione di masse pigmentarie dalla distruzione dei globuli rossi. Che se questa formazione di pigmento non occorre nelle altre iperemie della milza ciò dipende perchè nella infezione malarica si determinano cambiamenti chimici nel liquido splenico, i quali insidiano la esistenza dei globuli rossi. Frerichs adunque confermò le vedute di Virchow che, cioè, nella febbre intermittente il pigmento si forma nella milza e da questa penetra nel torrente circolatorio.

Colin (3) ritiene invece che la formazione del pigmento abbia luogo non soltanto nei vasi della milza, ma ancora in quelli degli altri organi, e che questa formazione di pigmento non abbia nulla di specifico, perchè avviene eziandio in altre malattie, per es. nelle ghiandole linfatiche del mesenterio nel tifo e nella dissenteria. Nella infezione malarica però la distruzione dei globuli rossi è più rapida e più notevole che in altre malattie d'infezione.

Mosler (4) tende ad ammettere la dottrina di Virchow e Frerichs, cioè la formazione primitiva del pigmento nella milza. Egli ritiene che la particolare struttura della milza disponga a questa formazione di pigmento, cioè che il sangue, fluendo

(1) *Die cellular Pathologie*. Berlin, 1881.

(2) *Loc. cit.*

(3) *Traité des fièvres intermittentes*. Paris, 1870.

(4) Ziemssen, *Handbuch*, T. 8. Part. 2. Milzkrankheiten, 1874.

dai capillari nelle vie sanguigne intermedie, non raramente ristagni, così che si originano delle conglomerazioni di globuli rossi i quali gradatamente si convertono in pigmento. Ammette quindi, come Frerichs, le alterate qualità chimiche del succo della milza nel tumore da malaria.

Arstein (1) non accetta la dottrina di Virchow e Frerichs, poichè ritiene che il pigmento si formi nel sangue circolante e durante l'accesso febbrile. Egli dice che nel sangue si trova il pigmento libero quando la febbre ha preceduto di poco tempo, e che nella maggior parte dei casi tutto il pigmento si trova raccolto entro i globuli bianchi. Esaminò gli organi principalmente melanotici cioè la milza, il fegato, il midollo osseo. Nella milza trovò il pigmento intorno alle arterie, ai capillari e alle vene, e principalmente intorno a queste, e dentro a tutti questi vasi incluso entro i globuli bianchi. In casi recenti soltanto lo trovò in altri organi (cervello, reni ecc.). Arstein quindi ritiene che la dottrina sulla melanemia di Virchow e di Frerichs sia sornita d'ogni appoggio di fatti. Egli crede invece che la melanemia sia primitiva e la melanosì secondaria, e ciò principalmente perchè la melanemia può constatarsi soltanto poco tempo dopo il parossismo febbrile (il che non si capirebbe se la melanosì della milza fosse primitiva) e perchè la disposizione del pigmento dentro il sangue circolante risponde perfettamente a quella che occorre per le materie coloranti (cinabro ecc.) introdotte nel circolo. Secondo Arstein adunque durante l'accesso febbrile si distruggono i globuli rossi, il pigmento che se ne forma viene rapidamente inghiottito dai globuli bianchi, i quali ristagnano nelle vene e nei capillari di quegli organi, dove la celerità della corrente è debole, vale a dire nella milza, nel fegato e nel midollo osseo. Quindi le cellule bianche pigmentate si depositano nei tessuti di questi organi, mentre nei capillari del fegato dimorano più lungamente. Quanto al modo di formazione del pigmento egli dice ignorarlo completamente perchè il processo di disfacimento non può essere seguito nei corpuscoli rossi; ammette però la possibilità che la formazione del pigmento occorra nel siero del sangue dalla emoglobina uscita dai corpuscoli rossi. Egli non crede che il pigmento si formi entro le cellule bianche, secondo quello che Langhans ha osservato nelle emorragie, perchè nel sangue circolante si trova pigmento libero e non si trovano cellule globulifere. Queste però si trovano nella milza e nel midollo osseo, ma sono scarse in confronto della enorme quantità di pigmento, che si trova nel sangue circolante.

Mosler (2) in un lavoro posteriore al citato non si accorda con Arstein che il pigmento si trovi soltanto poco tempo dopo l'accesso febbrile, e che sia completamente erroneo il ritenere che la formazione del pigmento abbia luogo nella milza. Egli racconta il caso di un uomo affetto di febbri da malaria, nel quale la presenza del pigmento si trovò non soltanto durante e breve tempo dopo il parossismo febbrile, ma ancora vari mesi dopo (3). Egli quindi insiste nel ritenere che la formazione del pigmento occorra unicamente nella milza, o che per lo meno in

(1) *Bemerkungen über Melänemie und Melanose*. Virchow's Archiv. T. 61.

(2) *Ueber das Vorkommen der Melanemie*. Virchow's Archiv. T. 69.

(3) Di casi analoghi a quello narrato da Mosler si osservano ancora nei nostri ospedali. Uno di noi ricorda di avere osservato nella Clinica medica del prof. Maggiorani un caso di melanemia,

questo organo accada più rapidamente e più abbondantemente in seguito alle gravi congestioni.

Lanzi e Terrigi (1) fanno notare la grande analogia che passa fra i granuli pigmentari che si trovano nel sangue e negli organi nella melanemia con quelli che esistono nei terreni paludosi, e specialmente nell'interno delle cellule delle alghe palustri, e sospettano che i primi possano essere identici ai secondi, i quali penetrebbero nell'organismo per le vie respiratorie.

Kelsch (2) in un accuratissimo lavoro riassume le osservazioni fatte in 1181 infermi d'infezione malarica acuta e cronica raccolti nell'ospedale di Philippeville. Egli si occupò principalmente dello studio del sangue e dello studio istologico degli organi principalmente offesi. Nel sangue egli trovò una diminuzione di numero dei globuli rossi, rilevata col metodo di Malassez. Quindi fa notare che vi sono poche malattie che producono una oligocitemia così rapida e così grave come la infezione malarica; venti o trenta giorni di febbre quotidiana semplice o di terzana bastano per abbassare la cifra dei globuli rossi da 5 milioni per mm.c. a 1 milione, e qualche volta fin sotto 500,000. La diminuzione dei globuli rossi ha il suo *maximum* di rapidità nello scoppiare della malattia, e va tanto più diminuendo quanto più il sangue diviene oligocitemico e gli accessi si allontanano. Nelle cachessie il numero dei globuli rossi rimane stazionario o presenta diminuzioni insignificanti. Oltre questa diminuzione dei globuli rossi, Kelsch ha trovato nel sangue dei malarici specialmente nelle febbri perniciose la presenza del pigmento o libero, o incluso in *masse jaline*, ma più sovente incluso nelle cellule bianche. Gli elementi melaniferi racchiudono 3-6 granuli di pigmento, talora messi in serie a corona nella periferia dell'elemento. Oltre questi elementi ne trovò altri che presentavano un riflesso brunastro accentuato nella zona marginale, in cui si riscontravano talora granuli finissimi neri, e nel sangue delle vene splenica e porta ravvisò la presenza di cellule melanifere, variabilissime nella forma e nelle dimensioni, cioè sferiche, poliedriche, ovoidi, allungate, in forma di biscotto, ecc. Dallo studio degli organi Kelsch viene alla conclusione che il pigmento melanemico si dispone assolutamente come il pigmento artificiale iniettato nelle vene, o libero, o raccolto entro cellule. Quanto al modo di formazione del pigmento Kelsch respinge la dottrina di Virchow e Frerichs. In un caso di perniciosa fulminante egli trovò poco pigmento nella milza, mentre il sangue n'era ricchissimo. Egli quindi crede che il pigmento si formi nel sangue circolante. Egli inoltre non può ritenere che parecchi degli elementi melaniferi rappresentino lo stroma dei globuli rossi scolorati con granuli pigmentari formati a spese dell'emoglobina, perchè non è dato riscontrare gli stadi intermedi di questa metamorfosi regressiva. Non ammette neppure la formazione intracellulare del pigmento, secondo Langhans, perchè il

nel quale in tutto il corso del male osservato in clinica la temperatura oscillò fra il 36 e il 37; una sola volta crebbe a 38, e nei due ultimi giorni al mattino il termometro non oltrepassò il 35,6, mentre nel sangue e durante la vita e dopo la morte si trovò molta copia di pigmento. (*V. Ragguaglio di due Turni di clinica medica di Roma del prof. Carlo Maggiorani 1873*).

(1) *La malaria ed il clima di Roma*. Roma, 1877.

(2) *Contribution à l'anatomie pathologique des maladies palustres endémiques. Observations sur l'anémie, la mélanémie et la mélanose palustre*. Archiv. de Physiol. nor. et path. 2 série. T. 2.

pigmento si trova anche libero nel sangue. Egli allora si rifugia nella ipotesi che la materia melanica esiste nel siero allo stato di soluzione e procede dalla distruzione dei globuli rossi; questa materia pigmentaria si precipita, quando il sangue ne è saturo, sotto forma di granuli, che sono tosto inclusi nei globuli bianchi, come accade pel cinabro iniettato nel sangue.

Uno di noi (Marchiafava) ⁽¹⁾ studiando la polpa splenica e il midollo osseo di bambini melanemici trovò globuli rossi, generalmente inclusi entro cellule bianche (*cellule globulifere*), i quali presentavano varia colorazione che dal giallo brunastro andava fino al nero più o meno intenso, prendendo l'apparenza di sferule nere di un diametro un poco minore di quello dei globuli rossi. Concluse allora che i globuli rossi non diano luogo alla formazione del pigmento dopo il loro disfacimento, ma che invece la conversione dell'emoglobina in pigmento nero occorra gradatamente entro il globulo rosso.

Klebs e Tommasi-Crudeli ⁽²⁾ studiando le alterazioni della milza nei conigli, ai quali aveano procurato artificialmente delle febbri malariche gravi, trovarono globuli rossi prima color nickel e conservanti la loro forma discoide, poi di colore nero e inclusi, isolati o aggruppati, entro cellule bianche, col disfacimento delle quali essi si liberano e si riducono in zolle. Conclusero quindi che la conversione dell'emoglobina in pigmento nero accade entro il corpuscolo rosso quando questo ha ancora la sua consistenza semifluida. Tommasi-Crudeli ⁽³⁾ inoltre ritiene che questa degenerazione dei globuli rossi occorra in tutto il sistema vascolare, e principalmente nei vasi della milza e in quelli del midollo osseo. Egli dice che nella melanemia ha luogo una *necrobiosi* dei globuli rossi prodotta da un'atrofia degenerativa specifica del loro protoplasma.

Afanassiew ⁽⁴⁾ fece i suoi studi nei malati delle truppe russe nell'ultima guerra russo-turca. Egli descrive le affezioni della milza, del fegato, dei reni, e del cervello nei cadaveri dei malarici. La sua descrizione è conforme a quella degli altri osservatori per quel che riguarda la milza, il fegato ed i reni. Nel cervello trovò distinto intorbidamento del protoplasma delle cellule nervose con ampliamento degli spazi pericellulari, le pareti dei capillari talora granulose, l'endotelio rigonfio, i granuli pigmentari ora nel lume vascolare, ora nelle cellule endoteliali, ora negli spazi perivascolari. Descrive tali granuli, quando sono isolati e non hanno dato luogo alla formazione delle zolle, come perfettamente rotondi, di uguale grossezza, aventi un centro bruno splendente: sulla loro derivazione dalla sostanza colorante del sangue eleva dubbî, mette in campo se essi non derivino altronde, trova che hanno analogia coi *micrococchi cromogeni* di Cohn, e sospetta la loro natura parassitaria.

Alla storia della melanemia sono legati i recenti lavori di Laveran e Richard.

Laveran ⁽⁵⁾ ritiene che gli elementi pigmentati descritti in parte da Kelsch e diversi dalle cellule bianche melanifere rappresentino elementi parassitari. Egli

⁽¹⁾ *Commentario clinico di Pisa*. Gennaio 1879.

⁽²⁾ *Studi sulla natura della malaria*. Atti della R. Accademia dei Lincei. 1879.

⁽³⁾ *Istituzioni di anatomia patologica*. Loescher. Torino, 1882-84.

⁽⁴⁾ *Beitrag zur Pathologie der Malaria infection*. Virchow's Arch. t. 84, 1881.

⁽⁵⁾ *Nature parasitaire des accidents de l'impaludisme* etc. Paris, 1881. Comptes rendus 1882.

descrive tre forme di questi elementi pigmentati da lui ritenuti di natura parasitaria: 1° Elementi allungati, affilati all'estremità, quasi sempre incurvati a semiluna, lunghi da 0^{mm},008 a 0^{mm},009, larghi 0^{mm},003 in media; i loro contorni sono indicati da una linea finissima, il corpo è trasparente incolore, salvo nella parte media ove esiste una macchia costituita da granuli nerastri; spesso dal lato della concavità si vede una linea finissima che riunisce l'estremità della semiluna. 2° Elementi sferici, trasparenti, del diametro delle emazie in media, contenenti granuli pigmentari, che allo stato di riposo designano spesso un cerchio assai regolare, e allo stato di movimento si agitano vivamente; talora si osservano alla periferia di questi elementi dei filamenti finissimi, che sembrano inserirvisi, e che sono animati in tutti i sensi da movimenti rapidissimi, e che hanno l'estremità libera leggermente rigonfia; tali filamenti possono staccarsi e muoversi liberamente in mezzo alle emazie. 3° Elementi sferici, di forma irregolare, trasparenti e finalmente granulosi, di 0^{mm},008 a 0^{mm},010 di diametro, contenenti granuli pigmentari, che ora sono disposti molto irregolarmente alla periferia, ora si agglomerano sia nel centro, sia in un punto della periferia stessa. Si trovano inoltre nel sangue, secondo la descrizione di Laveran, elementi sferici, trasparenti, contenenti granuli pigmentari mobili o immobili, elementi di un diametro più piccolo dei precedenti, ora isolati, ora riuniti, ora aderenti alle emazie e ai leucociti. Laveran crede che questi corpi pigmentati rappresentino stadi diversi di un elemento parassitario, che non può stabilirsi se appartenga agli animali o ai vegetali, che vive allo stato d'incistamento, e che allo stato perfetto diventa libero sotto forma di *filamenti mobili*. Oltre questi elementi Laveran notò nel sangue corpi brillanti, rotondi, mobili, senza carattere specifico, leucociti melaniferi, emazie che sembrano forate in uno o più punti, racchiudenti granulazioni pigmentarie, granuli pigmentari liberi originanti dalla distruzione degli elementi parassitari.

Richard (1) confermò pienamente le osservazioni fatte da Laveran, ma invece di ritenere, come quest'osservatore, che le forme piccole pigmentate si trovino aderenti ai corpuscoli rossi, le ritiene esistenti dentro i medesimi, dove si sviluppano, crescono e ne escono allo stato perfetto. Egli descrive questi corpi pigmentati parassitari nei vari stadi di sviluppo entro i globuli rossi, fino che arrivati allo stato di maturità perforano la membrana (?) del globulo rosso, divengono liberi nel sangue, presentandosi così muniti talora di filamenti mobilissimi come i corpi descritti da Laveran.

Ambedue questi ultimi autori notano che negli organi dei soggetti morti d'infezione malarica grave, questi supposti parassiti si riconoscono nei capillari dal *pigmento* che alla loro periferia si trova disposto in serie circolare. È giusto notare subito che ad ambedue questi autori si deve il merito di aver fissato l'attenzione degli osservatori sopra elementi pigmentati veduti in parte già da altri (Frerichs, Kelsch ecc.) e che non sono le cellule bianche del sangue, ed al secondo cioè a Richard di aver notato che i corpi pigmentati si trovano entro i globuli rossi.

Da questo riassunto sulla storia della melanemia si vede chiaramente come le opinioni degli autori sono varie, tanto sul luogo di formazione del pigmento, quanto

(1) *Sur le parasite de la Malaria*. Compt. rend. 1882.

sul modo preciso col quale questo si forma. Vi è poi un'altra categoria di autori, dei quali alcuni sospettano la natura parassitaria dei granuli pigmentarî, altri ritengono questi come parte costituente l'elemento parassitario. Era dunque di qualche interesse ritornare allo studio della melanemia in modo più accurato, e impiegando i mezzi dei quali la tecnica microscopica si è recentemente avvantaggiata.

Questo studio non potè essere fatto con tutta la larghezza desiderata, perchè da qualche anno la infezione malarica in Roma e nella campagna romana è divenuta mite, e conseguentemente le forme malariche gravi non sono frequenti negli ospedali di Roma, dove però abbondano le forme leggere di febbri intermittenti. Tale diminuzione nella gravità della infezione malarica ha la sua conferma ancora nella sala anatomica, dove nei cadaveri dei contadini morti per altre malattie non occorre così di frequente, come pel passato, di trovare la melanosì della milza, del fegato e del midollo osseo; melanosì la quale attesta della progressa melanemia.

Gli studî, dei quali noi rendiamo conto, furono fatti sul sangue dei febbricitanti raccolti nell'Ospedale di S. Spirito (1) dal luglio alla metà di ottobre dell'anno 1883.

Il metodo da noi adoperato nell'esame del sangue fu il seguente.

Il sangue fu raccolto da una puntura o da piccola incisione con una lancetta in un dito de' febbricitanti nei varî stadî dell'accesso. Avanti di fare la puntura o l'incisione la pelle veniva accuratamente lavata con alcool, e si aspettava che questo avesse evaporato; la prima goccia di sangue spesso si allontanava e non si adoperavano che le successive. Sulla goccia di sangue che gemeva dalla ferita si poggiava delicatamente un coprioggetti, perchè su questo se ne depositasse una piccolissima parte, quindi rapidamente si comprimeva contro un altro coprioggetti, e poi si facevano strisciare l'uno sull'altro in maniera che sopra ciascuno restasse uno strato sottilissimo di sangue, il quale veniva disseccato passandolo due o tre volte sopra la fiamma di una lampada a spirito; quindi sul preparato si facevano cadere una o due gocce di una soluzione acquosa o alcoolica di *turchino di metilene* recentemente filtrata, e dopo qualche minuto si lavava largamente in un recipiente contenente acqua distillata, si disseccava di nuovo e si chiudeva il preparato in olio di garofano, in olio di cedro, o in balsamo. Come si vede chiaramente, il metodo di preparazione è quello adoperato per la ricerca di microrganismi e degli elementi cellulari nei liquidi, dovuto principalmente a R. Koch e a P. Ehrlich (2). L'esame microscopico fu fatto colla lente di Zeiss $\frac{4}{12}$ (immersione omogenea).

Ora noi esporremo il risultato delle osservazioni.

I globuli rossi normali col metodo menzionato si colorano leggermente in turchino, o, se la sostanza colorante ha agito per poco tempo, e forse anche per ragione del grado del disseccamento, rimangono del loro colore giallognolo. I globuli bianchi presentano una colorazione turchina pallida del loro protoplasma, ed una

(1) Compriamo un dovere ringraziando il prof. F. Scalzi, direttore dell'Ospedale, il prof. E. Rossoni, incaricato dell'insegnamento della Clinica medica, e i medici primari ed assistenti dell'Ospedale, i quali tutti ci fornirono molti dei mezzi necessari al compimento dei nostri studî.

(2) Friedlaender, *Microscopische Technik zum Gebrauch bei medicinischen und pathologisch-anatomischen Untersuchungen*. Kassel und Berlin. 1883.

colorazione intensa del nucleo, cioè della membrana nucleare e dei granuli e del reticolo nucleari. Le piastrine si colorano in turchino, un poco meno pallido del protoplasma delle cellule bianche. Ma nel sangue degli individui affetti dall' infezione malarica si trovano, in mezzo ai globuli rossi normali, altri globuli rossi che presentano alterazioni del loro protoplasma, le quali sono evidentissime in quei globuli che non si colorano in turchino. Queste alterazioni consistono nella presenza entro il globulo di corpicciuoli in numero vario, di varia grandezza e forma, i quali risaltano per colorarsi più o meno intensamente in turchino, ma sempre in tal grado da distinguersi nettamente dal protoplasma, colorato o no, del globulo rosso. Questi corpicciuoli, per procedere dalle forme più piccole alle più grandi, si presentano *a*) come granuli generalmente rotondi, che si colorano più o meno intensamente ed uniformemente in turchino, e si possono rassomigliare spesso a micrococchi; di questi se ne trovano entro un globulo rosso uno o più; in taluni casi circa due terzi dei globuli rossi presentano uno, due, raramente tre o quattro di questi corpicciuoli; la grandezza loro è varia, poichè se ne presentano di quelli simili a granulazioni piccolissime e di quelli grandi quanto un grosso micrococco: *b*) come corpicciuoli più grandi dei precedenti con un vacuolo nel centro, così da rappresentare anelli più o meno grandi, più o meno sottili; di questi anelli colorati se ne trovano di tale grandezza da occupare un terzo o anche la metà di un globulo rosso, di forma ora sferica, ora ovalare, ora irregolare, e quasi dentata, talora aventi un prolungamento sottile il quale o si termina libero nel protoplasma del globulo rosso, o si unisce ad un altro anello vicino; di tali forme se ne trovano una, due, tre o anche più entro un solo globulo rosso: *c*) come corpicciuoli più grandi dei primi, uniformemente colorati, o con vacuoli, di forma sferica, ovalare, fusata, semilunare, triangolare, talora formanti masse irregolarissime, le quali generalmente presentano nel loro interno granuli o zolle di pigmento nero, o nero rugginoso. Le masse più grandi, di forma regolare o no, invadono in taluni globuli rossi tutto il protoplasma colorato dalla emoglobina, del quale rimane o un sottile contorno, o un lembo in qualche punto della periferia più o meno sottile, talora appena visibile con esame accuratissimo. Accanto a questi globuli rossi così alterati, si trovano dei corpi colorati come le masse descritte, ricchi di zolle e di granuli pigmentari, di forma sferica, ovalare, semilunare o irregolare. Questi corpi rappresentano evidentemente l'ultimo grado dell'alterazione del globulo rosso, il quale si converte così in un corpo senza emoglobina, che si colora col turchino di metilene, e contiene pigmento. Oltre questi globuli rossi, dei quali si possono seguire le fasi varie dell'alterazione fino alla conversione in una massa pigmentata, si trovano nei preparati frammenti di quest'ultima di varia forma, sempre pigmentati, e globuli bianchi nel cui protoplasma si trova pigmento in forma di granuli e di zolle più grandi di quelli trovati nelle masse incluse entro i globuli rossi.

Se al sangue uscente dalla ferita si mesce una goccia di acqua distillata purissima e poi si dissecca e si colora come nel primo metodo, allora si vedono insieme ai corpuscoli rossi normali, che hanno perduto l'emoglobina e che sono marcati da un contorno sottilissimo, altri che hanno ugualmente perduto l'emoglobina, che sono egualmente rivelati da un contorno sottilissimo, ma che contengono nel loro interno i corpicciuoli ricordati, intensamente colorati in turchino e nettamente distinti.

Abbiamo colorato il sangue con altri colori di anilina, acidi e basici, ed ecco il risultato ottenuto. Colla eosina i corpicciuoli si colorano in rosa pallido, mentre il resto del globulo rosso si colora intensamente in rosso giallastro; il pigmento rimane immutato. Colla vesuvina si colorano in rosso bruno. Colla tropeolina non si colorano affatto, e si riconoscono nel globulo rosso colorato di un bel giallo chiaro, come tante chiazze contenenti o no pigmento.

Esaminando il sangue a fresco, senza alcun trattamento, si vedono i soli corpicciuoli più grandi apparire come tante chiazze scolorate e pigmentate, come già in parte erano state descritte da Richard (*). I globuli rossi nei quali si trovano i corpicciuoli piccoli, rotondi, analoghi a micrococchi appaiono normali, o se vi sono chiazze, queste non possono distinguersi da quelle lacune, che accidentalmente si formano nei globuli rossi normali. Le chiazze pigmentate si presentano di varia forma, ingrandiscono gradatamente e confluiscono fra loro cosicchè tutto il globulo rosso si converte in un corpo scolorato, di aspetto jalino, contenente granuli e zolle di pigmento. Quando il globulo rosso contiene uno o più corpicciuoli pigmentati, e si mantiene ancora una discreta quantità del suo protoplasma colorato, conserva costantemente la sua elasticità normale. Quando invece si è convertito in un corpo jalino pigmentato, talora conserva la sua elasticità, talora invece questa è diminuita, e il globulo alterato aderisce al porta o copri oggetti, nè si muove colla compressione o si muove lentamente. I granuli pigmentari, che si trovano tanto nei globuli rossi chiazzati quanto nei globuli rossi completamente scolorati, formano le figure più svariate quando i globuli si muovono; cioè o si dispongono in cerchio alla periferia delle chiazze del globulo, o formano vari gruppetti circolari, o danno luogo ad altre forme irregolari. Quando i globuli rossi sono in riposo, i granuli pigmentari o sono immobili, o si muovono vivacemente, come si muovono le granulazioni entro i globuli bianchi, specialmente in quelli che si ritrovano nel siero raccolto sopra il coagulo. Nei preparati di sangue a fresco s'incontrano altre forme di globuli rossi alterati, cioè di quelli che presentano una sola metà scolorata e di forma semilunare, avente nel centro o in un punto della periferia zolle pigmentarie, o di quelli che hanno perduto in parte o in tutto l'emoglobina, e che presentano nel centro una sola chiazza di pigmento nero, rotondeggiante, irregolare, avente talora la forma di un embrione. Inoltre si trovano corpi jalini rotondi o irregolari pigmentati, e globuli bianchi riccamente pigmentati. Trattando il sangue con acqua distillata, i globuli rossi alterati prima si deformano, poi prendono una figura perfettamente sferica come gli altri globuli rossi. Per l'azione dell'acido acetico concentrato e dell'alcool, i globuli rossi alterati si riconoscono dal pigmento che contengono; con una soluzione di potassa caustica il pigmento si scioglie lentamente dopo 10-15 minuti. L'azione del ferrocianuro potassico, e dell'acido idroclorico purissimo, non produce la reazione caratteristica del ferro nei granuli e nelle zolle pigmentarie.

Questo è il risultato dell'esame microscopico del sangue degli individui affetti d'infezione malarica, specialmente durante l'accesso febbrile.

Quest'alterazione dei globuli rossi viene ritrovata sempre nella infezione da malaria? A questa domanda noi dobbiamo rispondere che se in molti casi sono assai

(*) Loc. cit.

numerosi i globuli rossi alterati, in altri casi sono scarsissimi sì che bisogna fare vari preparati per trovarne, in altri casi infine non si arriva a trovarne. Se questa scarsezza o mancanza dell'alterazione dei globuli rossi fu più facile nelle forme leggere d'infezione malarica, cioè nella febbre intermittente semplice, si è però da noi anche notata in casi gravi di febbre, ritenuti clinicamente come infezioni da malaria. Nelle forme di *febbre perniciosa comitata* finite colla morte, abbiamo riscontrata sempre quest'alterazione, come pure in casi di *febbri subcontinue*. Quando si trovano nel sangue tali alterazioni dei globuli rossi, gl'individui presentano sempre un aspetto particolare nel decorso della malattia: cioè la loro cute si fa rapidamente giallo-terrea, la debolezza è gravissima, e si ristabiliscono più lentamente, più difficilmente. Sarà un argomento importante quello di studiare il rapporto fra il grado dell'alterazione del sangue, e l'andamento clinico della infezione.

Veniamo ora a dire più particolarmente dell'alterazioni trovate nel sangue e negli organi degli individui morti in conseguenza di febbri perniciose. Noi non parleremo che dei casi occorsi in questo anno, dopo cioè che avevamo studiato le alterazioni che occorrono nei globuli rossi durante la vita, e li esporremo per intiero, facendo precedere un cenno della storia, e l'esame del sangue avanti la morte.

1° caso. *Febbre perniciosa algida*. — « R. D. di anni 25 entrò all'ospedale il giorno 11 agosto sofferente di febbri intermittenti a tipo quotidiano, e n'ebbe vari accessi nell'ospedale stesso. Alla visita pomeridiana del giorno 14 fu trovato in istato di abbattimento profondo, con la pelle freddissima, cianotica e i polsi impercettibili. Furono fatte iniezioni ipodermiche di chinina, che gli era stata amministrata internamente nei giorni antecedenti. Alle ore 2³/₄ antimerid. del giorno seguente morì.

L'esame del sangue a fresco fatto durante la vita dimostra numerosi globuli bianchi la maggior parte pigmentati: i globuli rossi non presentano alterazioni manifeste. Dopo la colorazione col metodo descritto si trova che molti globuli rossi presentano nel loro interno uno, due, raramente tre corpicciuoli, dei quali alcuni piccoli colorati più o meno uniformemente, ad altri alquanto più grandi, con vacuolo nel centro, si presentano come anelli turchini.

Autossia (ore 7 ant. del giorno stesso). Rigidità cadaverica persistente. Cute pallida.

Meningi e cervello con poco sangue. La sostanza grigia pallida.

Cuore normale: il miocardio di colore rosso grigiastro.

Polmoni leggermente edematosi.

Milza ingrandita due volte con numerosi infarti emorragici periferici recenti; parenchima molle di color rosso scuro.

Fegato di volume normale, con colorazione itterica della parte centrale dei lobuli.

Reni con capsula facilmente distaccabile, superficie grigiastro, glomeruli non prominenti, pallidi, sostanza dei tuboli contorti grigio-giallastro. Mucosa della pelvi e dei calici con numerose emorragie.

Lo stomaco presenta la mucosa rigonfia ed iperemica, sparsa di numerose emorragie.

Intestino normale; vescica dilatata.

Fu raccolto il sangue di vari distretti vascolari e ne furono fatti preparati colorati, come furono fatti collo stesso metodo preparati della polpa splenica e del midollo delle coste.

Questi preparati dimostrano all'esame microscopico numerosi globuli rossi contenenti i corpicciuoli osservati durante la vita; alcuni di questi corpicciuoli più grandi contengono pigmento; nel midollo osseo si osservano numerosi globuli rossi nucleati.

L'esame microscopico dei vari organi induriti coll'alcool e colorati o col bruno di Bismark o col turchino di metilene dimostra nei vasi sanguigni principalmente nei capillari i corpicciuoli descritti, intensamente colorati; se i globuli rossi sono riconoscibili per i loro contorni, questi corpicciuoli si vedono distintamente entro i medesimi, ma se i globuli rossi si disgregarono dando luogo al noto detritus grigio giallognolo, allora i corpicciuoli si vedono con uguale nettezza sparsi in quel detritus e però non si disfanno come i globuli rossi. Nei capillari dei vari organi, principalmente in quelli del cervello, questi corpicciuoli sono a tale distanza, quasi regolare, l'uno dall'altro, da far riconoscere che erano contenuti entro i globuli rossi anche quando i contorni di questi sono indistinti. Nel rene i capillari e le piccole vene presentano numerosi questi corpicciuoli, in mezzo ai globuli rossi convertiti in piccole granulazioni. In tutti i vasi sanguigni si trovano inoltre globuli bianchi pigmentati, e corpi pigmentati coloriti in turchino, rappresentanti l'alterazione ultima dei globuli rossi.

2° caso. *Febbre perniciosa comatosa*. — P. E. di anni 40 entrò nell'ospedale il giorno 29 settembre nelle ore pom. in un accesso di febbre perniciosa comatosa. Non si ebbero notizie anamnestiche, solo si potè sapere che proveniva dalla campagna. La morte ebbe luogo nella mattina seguente.

L'esame microscopico del sangue a fresco dimostra scarse cellule bianche pigmentate, globuli rossi con corpicciuoli pigmentati, numerosi corpi jalini di forma svariata, sferici, ovalari, fusati, semilunari contenenti granuli e zolle pigmentarie. Alcuni di questi corpi jalini hanno alla periferia una zona di protoplasma colorato dalla emoglobina; qualche forma semilunare si vede risultare da ciò che una metà del globulo rosso si è convertito in una massa jalina pigmentata della forma predetta, mentre l'altra metà è rimasta scolorata, e si vede solo il contorno sottile della medesima. L'esame fatto poco tempo prima della morte rivela un numero maggiore di globuli bianchi pigmentati.

I preparati colorati offrono numerosi globuli rossi contenenti corpicciuoli rotondi o nel centro, o alla periferia, o colorati uniformemente, o con vacuolo nel centro, ovvero anelli turchini di varia forma e grandezza.

Aulossia (7 ore dopo la morte). Edema delle meningi molli. Sostanza cerebrale bianca sparsa di emorragie puntiformi ('). Sostanza grigia di colore rosso eupo.

Edema polmonare bilaterale. Idrotorace. Idropericardio. Cuore normale, miocardio di colore rosso brunastro.

Milza di forma triangolare ingrandita il triplo, mollissima, di colore cioccolatte. Fegato di color grigio oscuro, lobuli indistinti.

Reni di colore grigio oscuro, e poveri di sangue. Midollo delle ossa corte e piatte del colore del parenchima della milza.

Nulla d'importante negli altri organi.

L'esame microscopico del sangue diè lo stesso risultato ottennto durante la vita; forse i globuli rossi contenenti corpicciuoli erano più abbondanti.

Quanto all'esame degli organi induriti e colorati, merita di essere ricordato che

(') Dalle osservazioni fatte negli anni antecedenti da uno di noi (Marchiafava) e in parte anche da Ferraresi risulta che in taluni casi di perniciosa comatosa si trova la sostanza cerebrale, soprattutto nel centro ovale, gremita di emorragie puntiformi. Esse si ritrovano anche nella retina, dove però la presenza di emorragie puntiformi non deve fare argomentare che in quel dato caso di

i capillari del cervello si presentano distesi da globuli rossi, contenenti i corpicciuoli ricordati, intensamente coloriti dalle sostanze dette e senza ombra di pigmento: si riscontrano rarissimi nei capillari del cervello i globuli bianchi pigmentati, e le forme pigmentate osservate in vita.

3° caso. *Febbre perniciosa comatosa*. — M. L. carrettiere fuori Porta maggiore entrò nell'ospedale alle 10 ant. del 6 ottobre già in coma profondo e con febbre alta. Quelli che lo accompagnavano dissero che soffriva da qualche giorno di febbre e che sin dalla mattina lo avevano trovato in questo stato entro una stalla. Dopo l'iniezione e l'amministrazione interna di chinina si riebbe alquanto, reagiva agli stimoli cutanei, ma non riacquistò i sensi. Poco dopo ricadeva nel coma profondo. Aveva dispnea gravissima, pulsazioni 140, temperatura 39°, color giallo sporco della cute, milza turgida e dolentissima, rantolo tracheale. Morì alle 6 pom.

Esame del sangue a fresco: globuli bianchi pigmentati in grande numero, parecchi globuli rossi con chiazze chiare contenenti granelli di pigmento nero.

Esame dopo disseccamento e colorazione: in circa la metà dei globuli rossi si trovano o corpicciuoli perfettamente sferici, intensamente colorantisi col turchino di metilene, o corpicciuoli più grandi con un vacuolo nel centro apparenti a guisa di anelli di varia forma e grandezza, taluni forniti di un prolungamento che termina libero, o che si unisce ad un anello prossimo.

« *Aulosia* (12 ore dopo la morte). Cadavere di un uomo robusto. Nutrizione buona. Colore della pelle giallo livido. Congiuntiva bulbare leggermente itterica. Sulla faccia interna della dura madre a destra in corrispondenza del lobo frontale si trovano due emorragie ricoperte da membranelle sottili estendentisi oltre il loro limite e munite di numerosi vasellini sanguigni. Due altre emorragie aventi gli stessi caratteri a sinistra in corrispondenza delle circonvoluzioni centrali. Infiltrazione emorragica delle meningi molli nei poli occipitali. Sostanza bianca punteggiata. Emorragie puntiformi nel centro ovale dei lobi occipitali. Sostanza grigia di un colorito rosso plumbeo. La sostanza grigia dei gangli presenta la stessa colorazione ma in grado minore, come in grado minore la presenta la sostanza grigia del ponte, del bulbo, del midollo spinale.

Cuore di forma e volume normale: miocardio di colore brunastro, lacerabile; polmoni congestionati ed edematosi nelle parti posteriori.

Milza ingrandita il triplo, capsula tesa, parenchima color cioccolatte scuro, mollissimo. Glandole linfatiche dell'ilo della milza tumefatte, mollissime, di colore rosso cupo.

Reni pallidi, flaccidi.

Stomaco e duodeno con emorragie numerose nella mucosa.

Fegato di volume normale, ricco di sangue scuro; la superficie di sezione ha colore rosso lavagna.

Cistifellea turgida di bile.

Intestina normale, salvo l'ultimo tratto dell'ileo, che presenta chiazze iperemico-emorragiche e turgore molle dei follicoli agminati.

perniciosa sono occorse emorragie cerebrali, perocchè le emorragie nella retina possono essere isolate. Si danno casi di perniciosa comatosa nei quali l'emorragie si trovano in una zona limitata del centro ovale e della capsula interna, o del tronco del cervello. In un caso si trovarono emorragie soltanto nella capsula interna destra, e in un piccolo tratto del centro ovale soprastante. Tali reperti rendono ragione delle emiplegie che rimangono dopo un accesso di perniciosa comatosa. Uno di noi (Marchiafava) ha veduto una Signora la quale è emiparetica da un secondo accesso di perniciosa comatosa, superato or sono tre anni. Altri casi di paralisi dopo infezioni da malaria abbiano veduto nel Gabinetto elettroterapico del prof. Brunelli. Che poi nelle forme perniciose occorran frequentemente emorragie è noto a tutti i medici, anzi dalla sede di queste emorragie molte perniciose hanno nome, come la perniciosa emottoica, enterorragica, metrorragica, ematemetica ecc. È degno di menzione un caso di *perniciosa pneumorragica* osservato nell'ospedale di S. Spirito, e nel quale, all'autossia, si trovarono ambedue i polmoni colpiti da infarti emorragici invadenti quasi tutto il parenchima polmonale.

Vescica con poca orina torbida, contenente, come si trovò all'esame chimico, albumina e pigmenti biliari, e, come si notò all'esame microscopico, cellule rosse e bianche, cilindri granulosi di color giallastro, di vario calibro, alcuni contorti.

L'esame microscopico del sangue dà lo stesso risultato avuto durante la vita, però i corpicciuoli contenuti entro i globuli rossi sono evidentemente più numerosi, e ve ne sono di quelli pigmentati. Nei vasi sanguigni degli organi si hanno numerosi globuli rossi alterati nel modo più volte ripetuto. I vasi capillari del cervello si trovano distesi da globuli rossi contenenti un grosso corpicciuolo colorato in turchino o in rosso mogano, secondo che le sezioni si colorano col turchino di metilene, o colla vesuvina, e contenente sempre una zolla di pigmento di forma rotondeggiante. Questi corpicciuoli nei tagli di cervello indurato nell'alcool sembrano liberi entro i capillari, ma da un esame accuratissimo si rileva come essi sono *contenuti dentro* i globuli rossi. La polpa splenica e il midollo osseo sono ricchissimi di globuli rossi più o meno alterati, e il secondo contiene un ragguardevole numero di globuli rossi nucleati.

La milza e il midollo osseo di questi cadaveri servirono anche a ricercare se il pigmento nero che contengono dà la reazione del ferro che non si riuscì ad avere nello stesso pigmento incluso entro i globuli rossi. Come liquido di reazione facemmo uso di una soluzione di ferricianuro potassico (1 per 12) leggermente acidulata con acido idroclorico chimicamente puro. Piccoli branelli di milza melanotica tagliati e dissociati con aghi di vetro, e posti con una goccia del reagente sotto il microscopio, dimostrano la reazione del ferro in alcuni globuli rossi, in moltissimi globuli bianchi, ove però debole ed ove intensa, in molte cellule globulifere, delle quali alcune hanno la sola colorazione diffusa del solo protoplasma, altre presentano la stessa reazione nei globuli rossi inclusi (*). Ma neppure dopo 24 ore di azione del reagente la massima parte dei granuli e delle zolle pigmentarie perde il proprio colorito nero rugginoso. Collo stesso risultato negativo fu ripetuto il trattamento in fegati e cervelli contenenti pigmento; in questi però si avea una leggiera colorazione azzurra dei corpicciuoli inclusi entro i globuli rossi, mentre rimaneva inalterato il pigmento che essi contenevano. Nessun aiuto ad ottenere la reazione si ebbe dalla temperatura gradatamente ascendente fino a 80° C. Del resto già il Perls (†) avea osservato che nella milza e nel fegato non tutto il pigmento nero dà la reazione del ferro, come non la danno i pigmenti biliari, l'ematoidina, il pigmento della coroida, e il suo omologo nella retinite pigmentosa.

Da questi tre casi caratteristici d'infezione malarica terminati colla morte si ha una conferma della esistenza dell'alterazione dei globuli rossi, specialmente dal fatto che i capillari dei vari organi, soprattutto del cervello, si mostrano ripieni di globuli rossi contenenti corpicciuoli, in due casi, quasi tutti iniziali, rotondi, piccoli, e non aventi affatto granuli di pigmento. È da notarsi ancora il fatto che essi corpicciuoli non sono liberi, ma invece sempre contenuti entro i globuli rossi,

(*) Confronta in proposito anche gli *Studi patologici e chimici sulla funzione ematopoetica*. Memoria di G. Tizzoni e M. Fileti. Atti della r. Accademia dei Lincei, anno 1880-81, vol. X.

(†) Virchow's Archiv., T. 39.

e che soltanto sembrano liberi quando i contorni di questi andarono perduti per l'azione dell'alcool.

Da quanto abbiamo finora esposto è dimostrato evidentemente che nella infezione da malaria occorre nei globuli rossi un'alterazione, la quale può essere seguita in tutte le sue fasi, e che si inizia colla presenza di granuli o corpiccioli generalmente sferici, colorantisi con alcuni colori di anilina, procede coll'ingrandimento di questi corpiccioli, colla loro fusione, e colla formazione di pigmento nerastro in forma di granuli e di zolle, e termina col ridurre il globulo rosso in un corpo pigmentato, di aspetto jalino, il quale quindi si disfà e il pigmento libero viene incluso nelle cellule bianche, e da queste depositato in alcuni organi (milza, midollo osseo, fegato).

Ora qual'è la natura di questa alterazione dei globuli rossi?

Che l'alterazione debba ritenersi di natura regressiva è fuori d'ogni dubbio, anzi essa può essere definita con Tommasi-Cradeli come una *necrobiosi del globulo rosso*, nella quale avviene la trasformazione della emoglobina in melanina, e per la quale di esso non rimane che un cadavere circolante, e per conseguenza incapace a compiere la sua funzione vitalissima. Ciò ammesso si può già stabilire in rapporto alla questione della sede di formazione e della genesi del pigmento nella melanemia: 1° che il pigmento si forma dentro i vasi sanguigni e nel sangue circolante; 2° che esso procede dalla sostanza colorante del globulo rosso e si forma proprio entro il protoplasma di questo. La prima conclusione è evidente, ammesso che il pigmento si forma entro i globuli rossi circolanti, ed è conforme a quanto aveano già stabilito Kelsch ed Arstein. Si comprende da sè la ragione per la quale non si può tener conto della ipotesi che il pigmento si formi dal sangue stravasato nelle emorragie della milza e di altri organi. La seconda conclusione non è meno evidente, perchè mentre si decolora il globulo rosso si deposita pigmento nero, e di questa decolorazione e pigmentazione si possono seguire tutte le fasi. Kelsch, come fu detto di sopra, avea già il dubbio che molte delle forme pigmentate rappresentassero globuli rossi decolorati e pigmentati, ma abbandonò questa idea perchè non gli riuscì di vedere tutti i gradi della pigmentazione, e pensò che il pigmento si formasse liberamente nel plasma del sangue dalla emoglobina discioltavi.

Sulla causa di tale necrobiosi dei globuli rossi noi per ora non possiamo dire alcunchè di preciso, come nulla si può dire sulla causa delle degenerazioni e delle necrosi di altri organismi elementari, in altre malattie d'infezione. Il dire che la malaria attacca i globuli rossi e ne determina il disfacimento è ripetere quello che l'osservazione clinica avea già fatto argomentare. Baccelli (1) difatti dice da ben lungo tempo che la malaria colpisce non soltanto il sistema ganglionare, donde i processi congestivi da paralisi vasomotoria, ma insidia ancora alla esistenza dei globuli rossi, che perdono la loro attività funzionale e si disfanno. Se non che nella alterazione dei globuli rossi da noi descrittasi manifestano talune particolarità degne di fissare l'attenzione dell'osservatore. L'iniziarsi dell'alterazione è segnato dall'apparire entro i globuli rossi granuli e corpiccioli

(1) *La perniciosità*. Lezione clinica. Archivio di medicina, chirurgia ed igiene, 1869.

generalmente sferici, che si colorano intensamente con alcuni colori di anilina. Rappresenterebbero questi corpicciuoli microrganismi, che invadono i globuli rossi e penetrano nel loro protoplasma? L'ipotesi non potrebbe essere più seducente, ma questi soli caratteri non valgono a farla accettare. Le granulazioni delle *Mastzellen* di Ehrlich presentano caratteri analoghi a micrococchi, e pure non sono che granulazioni del protoplasma.

Noi abbiamo provato di risolvere la questione tentando di coltivare il sangue dei malarici, per vedere se quei corpicciuoli si moltiplicassero. I primi tentativi fatti non sono riusciti. Così non riuscirono le colture di sangue fatte nella gelatina di Koch, quantunque si variassero in più modi le condizioni dell'ambiente; difatti la temperatura della stufa nei primi esperimenti si tenne a calore febbrile, ma poi nei successivi esperimenti per consiglio anche del prof. Filehne che si trovava in Roma per altri studi, si mantenne a quello normale del corpo umano, e poi a temperatura gradatamente più bassa fino a 30° C. Furono scelti per le colture i sanguini dove i globuli rossi mostravano il principio dell'alterazione, cioè i piccolissimi corpicciuoli. Le altre condizioni per la buona riuscita di una coltura furono nel maggior numero delle volte così bene ottenute, che attorno alle goccioline di sangue e in altre parti non si ebbe il minimo sviluppo di microrganismi. Nelle stesse condizioni non sono riuscite ripetute colture fatte in ossiemoglobina preparata secondo gl'insegnamenti di Hoppe Seyler, e fornitaci dal prof. Rossoni. Dopo l'insuccesso di questi tentativi se ne fecero altri fondati sulla opinione personale che a questi supposti parassiti del globulo rosso si dovesse, per vederne lo sviluppo fuori dell'organismo, fornire un terreno di coltura chimicamente analogo o identico a quello del globulo rosso. La necessità di adoperare temperature sterilizzanti senza contemporaneamente alterare l'emoglobina è stata causa che altri tentativi riuscissero in fallo. Finalmente con un lungo processo si riuscì a preparare un terreno solido di coltura abbastanza rispondente alle condizioni dette. In questo terreno fu messa una goccia di sangue, raccolto con tutte le precauzioni, da un dito di un giovane sorpreso nel momento del brivido iniziale di una febbre intermittente ordinaria. La temperatura della stufa era di 36°-36°, 5. Or bene nei primi tre giorni attorno alla gocciolina di sangue non si avvertì alcun cambiamento, ma nel quarto giorno s'incominciò a vedere un alone di colore grigiastro che, esaminato col metodo col quale si esaminava il sangue, si dimostrò costituito da corpicciuoli rotondi di varia grandezza, i più grandi scolorati nel centro e simili ad anelli. Nei terreni testimoni nulla si rivelò. Fatte due seconde colture alla stessa temperatura e nello stesso terreno, questo si disseccò e si solidificò rapidamente così da non permettere un ulteriore sviluppo. A questo inconveniente imprevisto si sarebbe già rimediato, ma volgendo al fine la stagione della malaria, non si potè trovare un buon sangue da farne coltura, e d'altra parte non riuscì il tentativo fatto per ottenere successive colture dall'alone disseccato della prima. Malgrado l'apparente identità delle forme vedute nei preparati della coltura con quelle che si trovano nel sangue in taluni casi specialmente di pernicioso, non crediamo che se ne possano trarre conclusioni. Noi abbiamo soltanto riferito il fatto; studi ulteriori diranno della sua significazione.

Nello stato d'incertezza in cui ci troviamo riguardo alla natura di quei picciuoli, si comprende da sè che non può dirsi in alcun modo se per avventura esista qualche rapporto fra i medesimi e le forme bacillari descritte da vari osservatori nel sangue dei malarici. A proposito delle quali noi ci permettiamo una breve digressione.

Dopo gli studi di Klebs e Tommasi-Crudeli (1) furono descritte da uno di noi (Marchiafava) e da Cuboni forme bacillari esistenti nel sangue dei malarici, rigonfiate all'estremità e talvolta anche nel mezzo, di varia lunghezza e dotate di movimenti vivacissimi serpiginosi e di traslazione. Appresso furono descritte le stesse forme di Marchand (2) e da Ziehl (3). Marchand trovò nel sangue di un febbricitante forme bacillari con estremi leggermente rigonfiati, aventi circa la lunghezza della metà di un globulo rosso, e dotati di movimenti vivaci. Ziehl trovò nel sangue di tre febbricitanti per malaria piccole forme bacillari, rigonfiate all'estremità, moventisi lentamente, ma le trovò egualmente nel sangue di un diabetico che non avea febbre, e nel quale suppose una infezione malarica occulta. In tutti e quattro i casi la chinina fece dileguare quelle forme. Se non che ulteriori osservazioni dimostrano che la natura parassitaria della maggior parte di esse forme è soltanto apparente. Nelle osservazioni fatte in questo anno sul sangue a fresco si trovarono talora quelle forme e soprattutto le piccole, descritte ancora da Marchand e da Ziehl, provviste di rigonfiamenti all'estremità, dotate di movimento vivacissimo e trascorrenti fra i globuli rossi fermi: ma non si trovarono le forme lunghe 2, 3, 4 volte i globuli rossi con rigonfiamenti terminali e centrali, il che ci fece ritenere che quelle forme si producessero dopo l'estrazione del sangue e a causa del metodo, col quale veniva questo esaminato. Il sangue difatti per lo passato si raccoglieva in tubetti di vetro rigonfi al centro, e che si chiudevano alla lampada, e poi si mettevano in posizione verticale per fare l'esame del siero raccolto sul coagulo. E in questo siero si trovavano le forme bacillari lunghe e più ricche di rigonfiamenti, le quali si pensò se non potessero originare dall'azione del calore della lampada sui globuli rossi. È noto difatti come il calore è un agente che ne produce le più svariate alterazioni. Alcune di queste sono state completamente descritte e si trovano disegnate in tutti i libri d'istologia (Frey, Ranvier, etc.), nei quali si legge pure che i frammenti originati dallo spezzamento dei globuli rossi, mantengono il colorito di questi, e sono in preda al solo movimento browniano. Ora noi abbiamo ripetuto le osservazioni sul sangue d'individui sani, raccogliendolo nei tubetti indicati e sottoponendolo ad una temperatura di 42°-48°; e così oltre globuli rossi che hanno completamente perduto l'emoglobina, ed altri che la presentano spezzettata entro i medesimi, come le goccioline di grasso entro il protoplasma di elementi cellulari, si veggono talora globuli rossi dai quali partono prolungamenti di varia lunghezza (2, 3, 4, 5 volte il diametro dei medesimi), regularissimi, terminati da un rigonfiamento, i quali sono in preda a movimenti serpiginosi flagellanti i globuli rossi circostanti. Alcuni di questi filamenti si vedono, dopo lunga osservazione, farsi liberi e allora, rigonfiatasi anche l'estremità che si distacca,

(1) Loc. cit.

(2) *Kurze Bemerkung zur Aetiologie der Malaria*, Virch. Arch. 88.

(3) *Einige Beobachtungen über den Bacillus malariae* d. me. Woch. 48.

non rimangono in riposo, ma dotati di movimenti vermicolari e spirilliformi passano in mezzo ai globuli rossi fermi e traversano il campo microscopico rapidamente. Inoltre siffatte forme si vedono ancora sebbene più scarse, senza l'azione del calore, così nel siero raccolto sul coagulo, soprattutto se il sangue è di un febbricitante, come nel sangue raccolto direttamente sul coprioggetto. È ragionevole pertanto il ritenere, come ha già notato anche Tommasi-Crudeli (¹), che molte delle forme descritte nel sangue dei malarici siano dovute a questi filamenti uscenti dai globuli rossi, e che si conformino in guisa da imporsi all'osservatore come forme bacillari. Restano a studiare meglio le forme piccole descritte anche da Marchand e da Ziehl, le quali finora non si riescì in nessun modo a colorare e a farne preparati da conservarsi.

I filamenti mobili descritti da Laveran e Richard e rappresentanti, secondo il primo, il parassita allo stato perfetto hanno gli stessi caratteri di quelli ora descritti e originano allo stesso modo. Noi abbiamo veduto nel sangue a fresco che quando la degenerazione del globulo rosso è quasi completa, e del protoplasma normale non rimane che una zona sottile, raramente ne fuoriescono filamenti mobilissimi, i quali dopo un tempo più o meno lungo si fanno liberi. Questi filamenti non si colorarono mai coi colori di anilina da noi usati, e per quanto accurato esame si sia fatto, non è mai riuscito di vedere prolungamenti colorati nei globuli rossi degenerati e pigmentati. Le forme semilunari di Laveran originano da ciò, che soltanto una parte del globulo rosso si converte in un corpo semilunare pigmentato, mentre l'altra si decolora, e non ne rimane che il contorno sottile, che solo di rado riesce vedere nei preparati colorati e chiusi nel balsamo.

Lasciando ora la digressione su queste forme di pseudomicroorganismi, veniamo alla ultima parte delle osservazioni e delle ricerche da noi fatte in questo anno.

Abbiamo veduto come in taluni casi, a cagione dell'alterazione descritta, una quantità enorme di globuli rossi muoiano e si disfacciano. Ora dobbiamo aggiungere che nel sangue degli stessi malati dove occorre tanta distruzione di cellule rosse, si trovano *globuli rossi nucleati*, *globuli rossi più voluminosi (macroцитi)* e *globuli rossi che si colorano diversamente da quelli ordinari*.

Fra i casi nei quali ci fu dato d'osservare questo fatto citiamo il seguente:

C. L. d'anni 19 di Roma, carrettiere, entrò nell'ospedale il 10 settembre. Non aveva mai per l'addietro sofferto febbri da malaria. Dal giorno 1° settembre al giorno 8 ebbe accessi di febbre intermittente a tipo quotidiano. Dal giorno 8, secondo egli asseriva, la febbre non l'aveva più abbandonato. Nella visita dell'ammalato, poche ore dopo l'ingresso, si trovò febbre altissima (41°), la pelle di color giallo terreo, la milza tumefatta e dolente alla palpazione, il sensorio ottuso. L'esame del sangue presentò numerosi globuli rossi alterati nel modo descritto, globuli bianchi pigmentati. Si fece una iniezione di bisolfato di chinina. La mattina dell'11 febbre a 38°5, la sera a 40°. Nuova iniezione di bisolfato. L'esame del sangue diede lo stesso risultato. La forma subcontinua durò fino al giorno 15, nella sera del quale la temperatura segnava 37°7. L'esame del sangue presentò sempre le note alterazioni dei globuli rossi, senonchè dal giorno 13 in poi cominciarono a trovarsi nel sangue *globuli rossi nucleati*, *globuli rossi assai voluminosi* aventi talora un diametro quasi doppio di quello dei globuli rossi normali; il numero dei globuli bianchi e delle piastrine era evidentemente aumentato. Dal giorno 15 in poi il miglioramento seguì costante salvo leggeri aumenti di temperatura nelle ore della sera, che durarono fino al giorno 21. L'esame del sangue fu proseguito fino

(¹) Loc. cit.

al giorno 28 nel quale il malato abbandonò guarito l'ospedale, e mentre i globuli rossi alterati e pigmentati, e le cellule bianche pigmentate andavano scemando, crescevano i globuli rossi nucleati, e i macrociti, i quali alla loro volta scemarono anehe essi finchè alla sera del giorno 27 se ne trovarono in numero scarso. Intanto la convalescenza fu abbastanza breve, l'appetito si manifestò presto e vorace, le forze che erano stremate, ritornarono sollecitamente.

I globuli rossi nucleati e i macrociti trovati in varî altri casi d'infezione malarica acuta durante la malattia e la convalescenza si riconoscono nei preparati a fresco e in quelli disseccati e colorati. In questi colorati col turchino di metilene i globuli rossi nucleati presentano il protoplasma di un colore turchino verdognolo, il contorno e i corpicciuoli del nucleo di un turchino cupo. La loro forma è svariata, il loro protoplasma ora è abbondante, ora scarso, ora scarsissimo talora esistente da un solo lato del nucleo, o contornante questo con zona sottile. Generalmente contengono un solo nucleo e grosso, ma talora hanno due nuclei, uno in via di scissione o gemmante. Questo nucleo spesso si vede *uscendo dal protoplasma*. I macrociti che nei preparati a fresco si presentano assai pallidi si colorano col turchino di metilene in turchino verdognolo meno intenso di quello del protoplasma dei globuli rossi nucleati. Le piastrine si colorano leggermente in bleu e si presentano o sole o aggruppate quasi sempre con contorni nettissimi. Ma nei preparati disseccati e colorati si riconoscono oltri i globuli rossi nucleati e i macrociti, globuli rossi del volume normale, i quali però, a differenza degli ordinari, prendono col turchino di metilene una colorazione identica a quella dei macrociti.

Ora quale è il significato della presenza di tutti questi elementi e principalmente dei globuli rossi nucleati?

È noto che i globuli rossi nucleati non si trovano normalmente nel sangue circolante nella vita estrauterina salvo nei primi giorni della medesima, ma vi si trovano abbastanza frequentemente nelle anemie gravi essenziali e sintomatiche in numero più o meno grande, mentre sono abbondantissimi nel midollo osseo e talora anche nella milza (¹). Ehrlich (²) disseccando e colorando i preparati di sangue insegna il metodo di trovarli più agevolmente. Finora però non furono descritti in malattie acute d'infezione. La loro presenza nella infezione malarica acuta così negli ultimi tempi della malattia come nella convalescenza sta senza dubbio in rapporto colla distruzione diretta di un numero maggiore o minore dei globuli rossi, ed è certo indizio che la funzione degli organi emopoietici ei è fatta più energica perchè si compia più rapidamente e in ragione del bisogno la rigenerazione di quegli organismi elementari in sì grande numero distrutti (³). Quanto ai *macrociti* e ai globuli rossi che si colorano diversamente dagli ordinari essi rappresentano evidentemente

(¹) In un caso di anemia gravissima da stenosi pilorica occorso ad uno di noi (Marchiafava) in una giovane, nel sangue si trovarono numerosi globuli rossi nucleati (in ogni preparato 10, 12). Dopo la morte se ne trovarono in numero enorme nel midollo osseo, e in numero notevole nella polpa splenica.

(²) Berl. Klin. Woch. 1881, n. 3.

(³) Il sig. prof. Eugenio Rossoni ci ha gentilmente comunicato di avere più volte rilevato coll'analisi spettrale fotometrica di Vierordt la diminuzione della quantità della emoglobina nel sangue dei febbricitanti per malaria, in rapporto approssimativo colla quantità di globuli rossi alterati; come pure di aver notato l'aumento graduale giornaliero della quantità della emoglobina nei convalescenti da grave infezione malarica e nel cui sangue si ritrovavano numerosi globuli rossi nucleati.

globuli rossi giovani, che hanno di fresco perduto il nucleo e ciò è d'accordo con quanto hanno già veduto Bizzozero e Salvioli (1) nel sangue degli animali resi anemici per salassi ripetuti allo scopo di studiare la ematopoesi nella milza.

Dopo avere osservato che nel sangue dei malarici dove ha luogo la distruzione dei globuli rossi si trovano globuli rossi nucleati, volemmo vedere se questi comparissero nel sangue nei casi ne' quali si fosse prodotta sperimentalmente la distruzione dei globuli rossi. Come agente distruttore scegliemmo l'acido pirogallico dimostrato tale dagli esperimenti di Neisser, Afanassiew ecc., e come animale di esperimento il cane

1^a Esperienza. — Cane bianco di media taglia.

3. 10. 83. Ore 11 ant. Iniezione sottocutanea di cc. 10 di acqua distillata avente in soluzione gr. 0,5 di acido pirogallico.

7 pom. L'animale non presenta alcun malessere.

4 Ore 11 antim. Iniezione sottocutanea di gr. 1 di acido pirogallico sciolto in gr. 10 di acqua distillata.

Ore 1 pom. Esame del sangue. — Numerosi globuli rossi in via di disfacimento, o ridotti a semplici corpi scolorati, zolle di emoglobina di varia grandezza che si colorano colla eosina.

L'animale è abbattuto; emette urina colore oliva, non v'è ittero.

Alle ore 5 1/2 fu trovato morto.

Aulossia. — Tutti i visceri si presentano di un colore grigio plumbeo. La milza turgida e di colore nero. Il fegato di colore plumbeo scuro. La cistifellea sovrappita di bile fluente. Il rene dello stesso colore. La vescica vuota. Il midollo delle ossa di color cioccolatte. I coaguli del cuore e dei vasi di color nero. L'esame del sangue dimostrò globuli rossi in via di disfacimento, numerosi globuli rossi perfettamente scolorati, granuli e zolle di emoglobina, e vari *globuli rossi nucleati*. La polpa splenica e il midollo osseo specialmente questo ultimo mostrano *numerosi globuli rossi nucleati*.

2^a Esperienza. — Cane nero di piccola taglia.

5. 10. 83. Ore 10 ant. Iniezione sottocutanea di gr. 0,5 di acido pirogallico sciolto in cc. 10 di acqua distillata.

Ore 1 pom. Esame del sangue negativo.

6. Ore 7 pom. Esame del sangue. Si trovano scarsi globuli rossi in via di disfacimento.

7. Ore 10 ant. Iniezione come sopra.

Ore 11 ant. Esame del sangue: grande numero di globuli rossi in via di disfacimento, e scarsi globuli rossi nucleati.

L'animale è molto abbattuto ed emette urina verde oliva. L'esame microscopico dell'urina ci dimostra cilindri e zolle di emoglobina. Non vi è ittero.

8. Ore 11 ant. Esame del sangue. Minor numero di globuli rossi in via di disfacimento. Globuli rossi nucleati.

L'animale si riebbe gradatamente finchè il giorno 15 l'esame del sangue non dimostrò più ne' globuli rossi alterati, nè globuli rossi nucleati.

3^a Esperienza. — Cane nero piccolo.

11. 10. 3. Ore 12 merid. Iniezione sottocutanea di gr. 1 di acido pirogallico sciolto in c. 10 di acqua.

12. Ore 8 ant. Il cane è abbattuto sonnolento, non mangia, emette urina verdognola, e vomita liquido verde giallognolo striato di sangue. Le sclerotiche non sono itteriche. L'esame del sangue dimostra numerosi globuli rossi in via di distruzione, globuli scolorati, zolle di emoglobina.

Ore 5 pom. Esame del sangue come sopra. L'animale seguita nello stesso stato.

13. Esame del sangue. Come sopra. L'animale seguita ad essere abbattuto, è sonnolento e non mangia.

(1) *Ricerche sperimentali sulla Ematopoesi splenica* — *Archivi di Bizzozero*, vol. IV. n. 2.

14. Esame del sangue a fresco e colorato. Si trovano globuli rossi nucleati scarsissimi, e globuli rossi di volume assai maggiore del normale. Seguitano le stesse condizioni del cane.

15. Esame del sangue come sopra. L'animale è abbattuto.

16. Ore 9 ant. Il cane è trovato morto.

Autossia. — Tutti gli organi si presentano di color grigio plumbeo. Furono fatti numerosi preparati disseccati e colorati del sangue del cuore destro. In ognuno si vedono numerosi globuli rossi in via di disfacimento, globuli rossi normali, globuli rossi aventi un diametro maggiore e talora doppio dei normali, globuli rossi del volume normale ma che si colorano in turchino verdognolo, scarsi *globuli rossi nucleati* (4-5 per preparato), numerosi globuli bianchi meno o polinucleati con protoplasma granuloso o jalino, cellule endoteliali. Nella polpa splenica si trovano numerose cellule bianche contenenti frammenti colorati di globuli rossi, e *globuli rossi nucleati*. Il midollo delle ossa macroscopicamente di colore rosso cupo contiene cellule bianche contenenti frammenti di globuli rossi, le cellule proprie del midollo, o cellule a nucleo gemmante e globuli rossi nucleati in maggior quantità che nella milza e nel sangue del cuore. I globuli rossi nucleati tanto del sangue circolante quanto della milza e del midollo osseo si dimostrano più evidenti colorando col turchino di metileuc i preparati disseccati al calore (1).

Da questi esperimenti risulta adunque che producendo la distruzione dei globuli rossi, dopo un tempo brevissimo, si trovano nel sangue circolante globuli rossi nucleati, globuli rossi di volume superiore al normale e globuli rossi che si colorano diversamente dagli ordinari, elementi tutti i quali poi si riscontrano più abbondanti nella milza e nel midollo osseo dopo la morte dell'animale. Che la presenza di essi globuli nucleati derivi dall'aumentata attività degli organi emopoetici, come già si è detto di sopra, ed esprima una vero compenso di rigenerazione, è fuori di dubbio. La stessa interpretazione viene data da tutti quelli che recentemente si sono occupati della fisiopatologia del sangue sia che questi globuli rossi nucleati fossero ritrovati nel sangue, sia che fossero ritrovati nella milza e nel midollo osseo (Bizzozzero, Nenmann, Salvioli, Foà, Pellacani, Orth, Litten ecc.). E questa veduta è viepiù confermata dalle nostre osservazioni, poichè in taluni casi d'infezione malarica è dato quasi di vedere sotto gli occhi i due processi distruttivo e rigenerativo dei globuli rossi. Così esaminando il sangue di un malato di *F. subcontinua* dal giorno nel quale entra nell'ospedale, sino a quello nel quale esce guarito, si vede che dopo tre o quattro giorni da che si avverte la distruzione dei globuli rossi, cominciano a vedersi i globuli rossi nucleati, il numero dei quali cresce sempre, mentre quella diminuisce, poi va gradatamente diminuendo anch'esso finchè si riduce al minimo a convalescenza inoltrata.

È ragionevole poi di ritenere che il passaggio nel sangue circolante dei globuli rossi nucleati avvenga per la formazione dei globuli rossi negli organi emopoetici è così attiva, così tumultuaria, che sfuggono nel circolo generale dal parenchima emopoetico i globuli rossi ancora in via di formazione, cioè i globuli rossi, prima che in qualsiasi maniera abbiano perduto il nucleo.

Sebbene queste nostre ricerche non abbiano raggiunto completamente lo scopo al quale furono dirette, crediamo però che abbiamo giovato a far conoscere meglio le alterazioni che nei globuli rossi produce la malaria, e a chiarire la genesi della

(1) Ricordiamo che questi esperimenti furono fatti per l'unico scopo già espresso, e però non si fecero altre ricerche che non fossero a quelle strettamente legate.

melanemia. Rimane però sempre a determinare la natura dell'agente specifico al quale sono dovute le menzionate alterazioni, e a ciò saranno dirette altre ricerche. Infine se dallo studio di queste alterazioni dei globuli rossi ridondi qualche utilità al Clinico è facile il giudicarlo. Si è già detto che esse non si trovano sempre, e che possono mancare così nelle forme leggere dell'infezione, come in forme gravi clinicamente ritenute per malariche: quindi la loro assenza non fa escludere la infezione da malaria, la loro presenza la fa ammettere indiscutibilmente, e ciò anche perchè non ci è riuscito di trovarle in nessuna delle altre malattie d'infezione (febbre tifoide, meningite cerebrospinale, morbillo, polmonite etc.), nelle quali finora abbiamo potuto esaminare il sangue.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

FIG. A — Globuli rossi nei vari gradi dell'alterazione. Dall'1 al 32 globuli rossi contenenti corpicciuoli e masse pigmentate di grandezza e forma diversa. Dal 33 al 36 globuli rossi nell'ultimo grado dell'alterazione, convertiti in corpi senza emoglobina, contenenti granuli e zolle di pigmento. Dal 37 al 42 corpi pigmentati derivanti dal disfacimento dei precedenti.

FIG. B — *a*) globulo rosso normale; *b*) globulo bianco pigmentato.

FIG. C — Globuli rossi dopo l'azione dell'acqua distillata; *a*) globulo rosso contenente corpicciuoli alcuni dei quali pigmentati; *b* *b'* *b''* globuli rossi normali.

FIG. D — Sangue in caso di *f. perniciosa comatosa*: globuli rossi contenenti 1 o 2 corpicciuoli senza pigmento: globulo bianco pigmentato.

FIG. E — Sangue in caso di *f. perniciosa comatosa*: globuli rossi contenenti corpicciuoli con vacuolo nel centro, conformati a guisa di anelli e taluni contenenti granuli di pigmento: globulo bianco pigmentato.

FIG. F — Globuli rossi nucleati.

FIG. G — Sangue di un convalescente di *f. subcontinua*: globuli rossi nucleati, globuli rossi giovani, globuli rossi ordinari, numerose piastrine.

Tutti i preparati delle fig. precedenti si ottennero col disseccamento e successiva colorazione col turchino di Metilene.

Ob. $\frac{1}{12}$ Zeiss (immersione omogenea), oc. Hartnack 3, tubo alzato (apparato di Abbe).

FIG. H — Sostanza grigia corticale del cervello in un caso di *f. perniciosa comatosa*: tutti i capillari sono pieni di globuli rossi contenenti corpicciuoli. Hartnack ob. 7, oc. 3 tubo alzato.

FIG. L — Lo stesso preparato. — Ob. Zeiss $\frac{1}{12}$, oc. Hartnack 4, tubo alzato (apparato di Abbe).

FIG. M — Sostanza grigia corticale del cervello in altro caso di *f. perniciosa comatosa*: i capillari sono pieni di globuli rossi contenenti corpicciuoli pigmentati. Hartnack ob. 7, oc. 3, tubo alzato.

FIG. N — Lo stesso preparato, nel quale si vede distintamente che i corpicciuoli pigmentati si trovano entro i globuli rossi. Ob. Zeiss. $\frac{1}{12}$, oc. Hartnack 4, tubo alzato (apparato di Abbe).

I preparati delle ultime quattro figure furono colorati col turchino di Metilene.

Fig. A

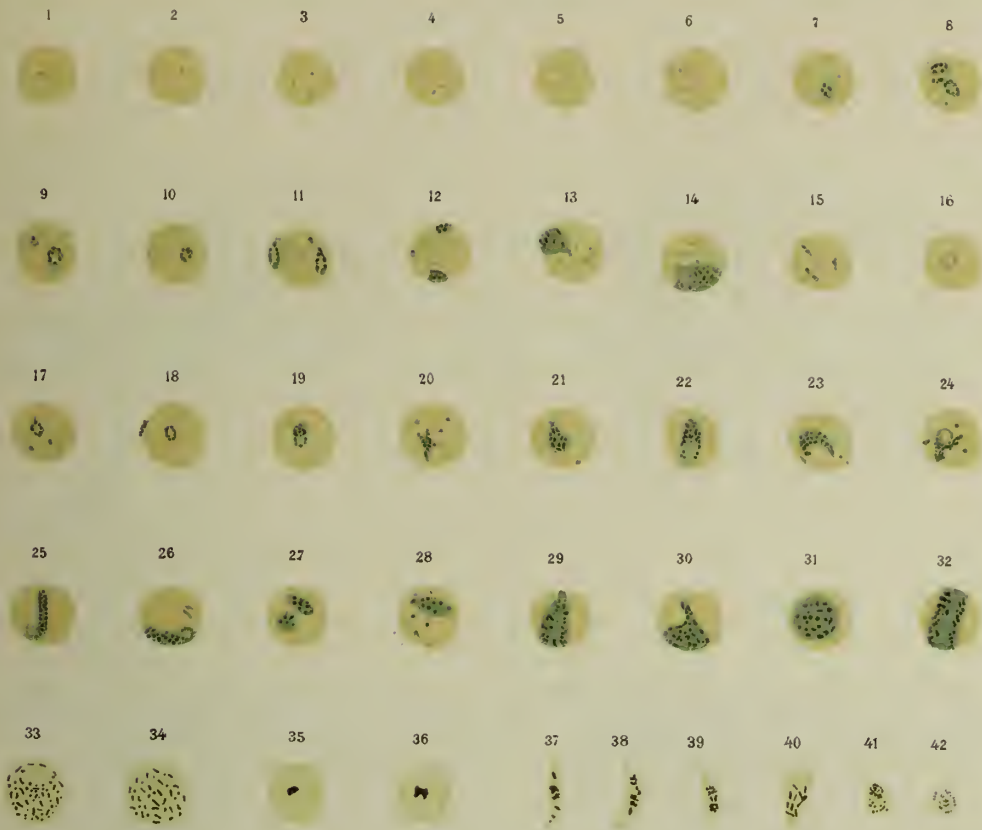


Fig. B



Fig. C

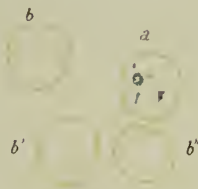


Fig. D



Fig. E

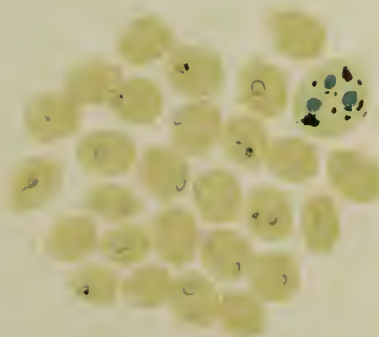


Fig. F



Fig. G

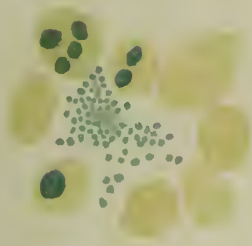


Fig. H



Fig. L

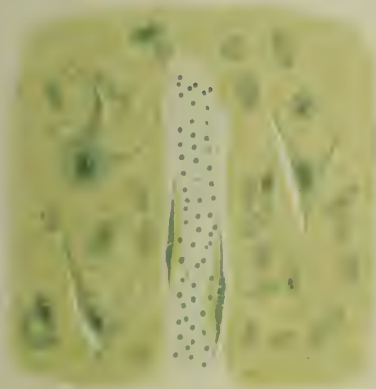


Fig. M

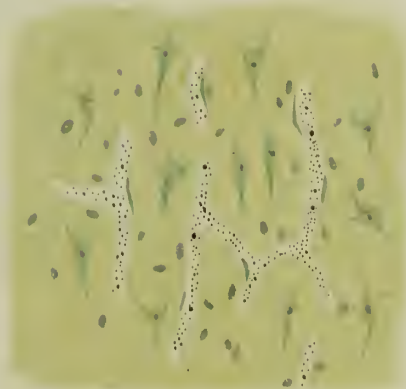


Fig. N



